

29 מאי 2016

ערכת אפיון דנ"א

1. כללי

- 1.1. מעבדת דנ"א וביולוגיה ומעבדת מאגר הדנ"א מעוניינות לרכוש ערכה לאפיון דנ"א.
- 1.2. הערכה תשמש לזיהוי בני אדם באמצעות קביעת אתרי STR, למטרות זיהוי פלילי (פורנזי), וכן לאפיון דנ"א מדגימות שמקורן בזירה.
- 1.3. ניתן לספק 2 ערכות נפרדות אחת המיועדת לשיכפול דנ"א מכרטיסי FTA והשניה מיועדת לאפיון דגימות שמקורן בזירה ובלבד שיכילו את אותם האתרים.
- 1.4. הערכה פותחה ע"פ המלצת הגופים האירופיים והאמריקאים העוסקים בבדיקות דנ"א לזיהוי פלילי (EDNAP) European DNA Profiling Group, Scientific Working Group (SWGDAM) on DNA Analysis Methods.
- 1.5. אפיון זה מתייחס לאספקת ערכת דנ"א כמפורט בסעיף ג' להלן.
- 1.6. הערכה תעמוד בתנאים ובכל הסעיפים המופיעים באפיון זה.

2. מסמכים ישימים

- 2.1. Ensenberger, M. G., et al. (2016) Developmental Validation of the PowerPlex Fusion 6C System. Forensic Science International: Genetics. 21: 134-144.
- 2.2. Martin, P. et al (2014) Improving DNA data exchange: Validation studies on a single 6 dye STR kit with 24 loci. Forensic Science International: Genetics. 13: 134-144.
- 2.3. Developmental validation of the Investigator 24plex QS kit. (2015) Qiagen. <https://www.qiagen.com/us/resources/download.aspx?id=872d8da0-2390-41c3-a949-6093849a32cd&lang=en>

3. פירוט הערכה ואיפיון טכני

- 3.1. הערכה תשמש לזיהוי בני אדם באמצעות דנ"א, למטרות זיהוי פלילי (פורנזי).
- 3.2. הערכה תאפשר איפיון של לפחות 20 אתרי ה-STR הבאים: CSF1PO, TPOX, D5S818, D7S820, D13S317, D16S539, FGA, THO1, vWA, D3S1358, D8S1179, D18S51, D21S11, D22S1045, D1S1656, D10S1248, D2S441, D12S391, D2S1338, D19S433 ואתר לזיהוי המין (Amelogenin).
- 3.3. הערכה תתאים לשכפול הדנ"א באמצעות מערכות PCR של חברת Life Technologies מדגם Applied Biosystems® GeneAmp® PCR System 9700.
- 3.4. אפיון תוצרי השכפול יעשה באמצעות טכנולוגיה של 6 צבעים המתאימים להרצה במכשירי ABI מדגם 3500XL.
- 3.5. זמן השכפול של דגימות ממוצגים ודגימות יחוס באמצעות הערכה, יארך 90 דקות לכל היותר.
- 3.6. תוצרי השכפול ישמרו על איזון בגובה הפיקים בין אללים בתוך כל אתר ולאורך הפרופיל בין האתרים השונים.
- 3.7. הערכה תבצע שיכפול דנ"א ממוצגים ודגימות מזירה בנפח ריאקציה של 25 מיקרוליטר בתנאי שיכפול כפי שיוגדרו על ידי היצרן.
- 3.8. הערכה תבצע שיכפול דנ"א מכרטיסי FTA ללא כימות וללא מיצוי הדנ"א מהכרטיס בתנאי שיכפול ובנפח כפי שיוגדרו על ידי היצרן/מציע, יכולת הערכה בפועל תיבדק כמפורט בנספח א, טבלה ב, סעיף 4.
- 3.9. הערכה תאפשר הפקת פרופילי דנ"א מדנ"א מפורק: מקטעי הדנ"א המשוכפלים יהיו בתחום גדלים שאינו עולה על 500 זוגות בסיסים.
- 3.10. הערכה מכוונת לשיכפול אופטימלי של דנ"א בכמות של בין 0.5 – 1 ננוגרם, לפי ספסיפיקציות של היצרן.
- 3.11. מחיר הערכה יכלול:
- 3.11.1. Taq Polymerase.
- 3.11.2. סולם אללים.
- 3.11.3. פריימרים לאתרי STR ואתר לזיהוי המין.
- 3.11.4. בופר ומרכיבי ריאקציה נוספים הדרושים/מומלצים ע"י היצרן/מציע לשכפול וע"פ הנפח לשכפול שהוגדר בהצעה.
- 3.11.5. סולם גודל פנימי בכמות מספקת להרצת כמות הריאקציות בערכה.
- 3.11.6. ביקורת דנ"א חיובית.
- 3.12. פרופילים המיוצרים ע"י הערכה יתאימו לניתוח ועיבוד באמצעות התוכנה Applied Biosystems GeneMapper IDX 1.3 של חברת Applied Biosystems.

4. ולידציה במעבדת המשתמש (In house validation)

- 4.1. הזוכה יהיה אחראי לביצוע ולידציית משתמש במעבדות מז"פ (מעבדת דנ"א וביולוגיה ומעבדת מאגר הדנ"א), באמצעות בדיקות אלה יקבעו הפרמטרים לעבודה שוטפת עם הערכה.
- 4.2. עבודת הוולדציה תעשה על ידי מי שאושר בכתב על ידי יצרן הערכה לביצוע הבדיקות.
- 4.3. בדיקות הוולדציה יערכו באמצעות המכשור המותקן במעבדות מז"פ.
- 4.4. מיצוי הדנ"א וקביעת הריכוז (כימות) יעשו בשיטה ובתנאים המשמשים כיום במעבדה.
- 4.5. תוצאות הבדיקות ינותחו, יפורטו בכתב ויסוכמו ע"י עורך הוולדציה ויאושרו על ידי היצרן.
- 4.6. במידה ותוצאות הבדיקות יעלו צורך בחזרה או תוספת לבדיקות הוולדציה הנדרשות בטבלה א', הבדיקות הנוספות יבוצעו ע"י הזוכה.
- 4.7. מועד ביצוע הוולדציה יתואם עם הזוכה, הזוכה מתחייב להתחיל בבדיקות לא יאוחר מחודש מפניה, ויסתיים תוך שמונה שבועות ממועד התחלת הבדיקות (כולל מסירת דו"ח סופי).
- 4.8. בוולדציה יכללו כל הבדיקות/ניסויים המפורטים בטבלה א'.

טבלה א' – בדיקות ולידציה במעבדת המשתמש

נושא הבדיקה	תיאור הבדיקה	הערות
1. קביעת סף הזיהוי (analytical) (threshold value)	שיכפול דנ"א של דוגמת הביקורת ובדיקת רעש הרקע לאחר הרצה (בקיזוז אללים, סטטרים ופול-אפים)	50 דגימות לפחות בכל מעבדה.
2. קביעת סף סטוכסטי	שכפול דנ"א של דגימת ביקורת בריכוזים שונים וקביעת ערכי RFU לסף סטוכסטי. כמויות דנ"א: 0.5ng, 0.25ng, 0.125ng, 0.0625ng, 0.03125ng	250 אתרים הטרוזיגוטיים לפחות, בכל מעבדה.

נושא הבדיקה	תיאור הבדיקה	הערות
3. קביעת רמת דיוק	הזרקה חוזרת של סולמות אללים לקביעת רמת הדיוק בקביעת האללים.	לפחות 10 הזרקות חוזרות מ- 24 בארות, בכל מעבדה.
4. קביעת אחוז הסטרים	בדיקה של אחוז הסטטר בדגימות ביקורת ודגימות רפרנס.	בדיקה של לפחות 3 שכפולים נפרדים של 20 דגימות לפחות, במעבדת דנ"א וביולוגיה.
5. קביעת איזון בין אללים באתרים הטרוזיגוטים	שכפול דנ"א של דגימת ביקורת בריכוזים שונים ומדידת האיזון בין אללים בתוך האתרים בטווחי גובה פיקים שונים. כמויות דנ"א: 0.5ng, 0.25ng, 0.125ng, 0.0625ng, 0.03125ng	400 אתרים הטרוזיגוטיים, במעבדת דנ"א וביולוגיה.
6. קביעת רגישות	שיכפול דנ"א ביקורת בדופליקט והזרקה פעמיים של כל שיכפול. כמויות דנ"א: 0.5ng, 0.25ng, 0.125ng, 0.0625ng, 0.03125ng	במעבדת דנ"א וביולוגיה.
7. קביעת יכולת הפרדה בין פרטים בתערובת	קביעת היחס המאפשר זיהוי מרכיב חלש בתערובת של שני פרטים. הכנה של תערובות דנ"א ביחסים שבין 1:1 עד 1:15 ובדיקתן, שתי חזרות בלתי תלויות לפחות.	במעבדת דנ"א וביולוגיה.
8. השוואת דוגמאות מתיקים	שכפול והרצה של לפחות 30 דגימות שנבדקו בתיקי המעבדה, בערכה המשמשת כיום, והשוואה לתוצאות שהתקבלו.	במעבדת המאגר: השוואה של לפחות 70 דגימות לפרופילים שהתקבלו בבדיקות קודמות.
9. קביעת תנאי שיכפול אופטימליים לדגימות תאי פנים לחי על נירות FTA	קביעת הפרמטרים האופטימליים לשכפול.	מספר מחזורי PCR, שטיפות, בופר, נפח דגימה.

5. בטיחות

- 5.1. החומרים יסופקו באריזות מתאימות כך שיעמדו בתנאי ההובלה והאחסון במעבדה.
- 5.2. הערכות יועברו ויסופקו בתנאי טמפרטורה כפי שנדרשים על ידי היצרן.
- 5.3. בכל משלוח יצרף הזוכה דפי בטיחות – Material Safety Data Sheet-MSDS ו- Certificate of analysis.
- 5.4. בנוסף, יגיש הזוכה הצהרה כי הינו מאחסן ומשנע את החומרים ע"פ הנחיות היצרן ומסמכי הבטיחות (MSDS).

6. אספקה

- 6.1. הזמנת החמרים תבוצע ע"פ כמויות כמפורט בהזמנה מאושרת בכתב מרמ"ד תקציבים אח"מ וזמן האספקה לא יעלה על 20 יום מיום קבלת ההזמנה החתומה.
- 6.2. החומרים יסופקו למעבדות מז"פ בירושלים עם תוקף של שישה חודשים לפחות ביום אספקתם. בתנאי האחסון בהתאם להוראות היצרן, לא תהייה כל ירידה בפעילות במשך תקופה זו.
- 6.3. נדרשת אספקה של אותה אצווה בערכות המתקבלות במשך חצי שנה לפחות.
- 6.4. הספק יחזיק אצלו במלאי שתי ערכות לפחות למקרה חירום, על מנת שתתאפשר אספקה מיידית למזמין.

7. אחריות

- 7.1. הספק יעסיק, בארץ, נציג שרות בקיא בהפעלת הערכה, התוכנות והמכשירים הנדרשים לצורך שימוש בערכה, במיוחד במעבדות פורנזיות.
- 7.2. השירות הטכני יינתן לפי דרישה ולא יאוחר מ-24 שעות מרגע הקריאה.
- 7.3. במידה והערכות שהתקבלו תגענה במצב שאינו מספק קבלת פרופילים, יוחלפו הערכות ע"י הספק והמזמין יקבל אחרות תמורתן, ללא תוספת מחיר, תוך 7 ימים.

8. הבטחת איכות

- 8.1. הערכה תהייה תקפה (validated) לעבודה במעבדות פורנזיות (ולידציה של היצרן).
- 8.2. ליצרן הערכה מערכת בקרת מתועדת בתהליך היצור של הערכות. המסמכים המעידים על כך יועברו לידי נציג מ"י ע"פ דרישה.
- 8.3. כל ערכה תסופק עם מסמך המציין כי עמדה במבחני הבטחת האיכות של היצרן.
- 8.4. במידה ובבדיקות הוולידציה או בעבודה שוטפת תזוהה בעיה טכנית ו/או מדעית משמעותית שתפגע באיכות הנדרשת לבדיקות דנ"א בתיקים פליליים (כגון: הופעת ארטיפקטים, בעיות באיזון בין אתרים בפרופיל או בתוך האתרים, קבלת פחות מ-80%

פרופילים מלאים מכרטיסי FTA לצורכי מאגר) ותגרום לקושי בהגשת התוצאות לבית משפט, תוכל המעבדה לפסול את הערכה הזוכה.
לזוכה תינתן האפשרות לפתור את הבעיה תוך 8 שבועות מקבלת הודעה.

9. אריזה וסימון

- 9.1. החומרים יסופקו באריזה וסימון מקוריות של היצרן ואשר תכיל את הנתונים הבאים:
 - 9.1.1. שם הערכה ותכולת האריזה.
 - 9.1.2. מספר אצווה.
 - 9.1.3. תאריך פג תוקף.
 - 9.1.4. תנאי אחסון נדרשים.
 - 9.1.5. אזהרות בטיחות רלבנטיות.
- 9.2. נדרשת אריזה של לפחות 400 בדיקות לערכה (בדיקות בנפח סופי של 25 מיקרוליטר לבדיקה).

נספח א'

ניסוי ובדיקת איכות לערכות – טרם קביעת זוכה

1. הערכה תיבדק בבדיקות המתוארות בטבלת האיכות (טבלה ב').
2. הבדיקות יבוצעו על ידי צוות מעובדי מעבדת דנ"א וביולוגיה וצוות מעובדי מעבדת מאגר הדנ"א. כל הערכות תיבדקנה על ידי אותו צוות ובאותו ציוד בדיקה.
3. דגימות ה-DNA שישמשו לבדיקה יוכנו (או יבחרו) על ידי עובדי המעבדה.
4. במס"ד 1 עד 3 כפי שמצוין בטבלת האיכות, יבחנו 30 דגימות מהביקורת החיובית ו-30 דגימות דנ"א שיופקו במעבדה.
5. פרוטוקול העבודה שישמש במהלך הבדיקות יהיה ע"פ המלצות היצרן ו/או נציגו בארץ.
6. בדיקת היתכנות לשכפול בהתאם להנחיות יצרן/מציע יבוצעו במעבדת המאגר (מס"ד 4 בטבלת האיכות).
7. באחריות המציע להגיע למעבדה ולהתקין את כל המכשירים והתוכנות הנדרשים לביצוע הניסוי.
8. ערכות לביצוע הניסוי ולהכנת המכשירים לניסוי יסופקו על ידי המציע ועל חשבוננו. עלות הערכות לבדיקה לא תוחזר למציעים.
9. התקנת המכשירים, התוכנות והערכות לבדיקה יושלמו תוך שלושה שבועות מקבלת הודעה.

טבלה ב' - טבלת האיכות (תועלת)

מס"ד	נושא	ערך רצוי	אופן הבדיקה	דרישה	הערות
1	איזון בין אללים בתוך האתרים	רמת איזון ממוצעת מינימלית תהיה - 70% או יותר	יבדקו דגימות בכמות של 0.5 ng	עומד/ לא עומד	
2	הופעת ארטיפקטים	הופעת ארטיפקטים (לא כולל סטטרים או pull-up) בלא יותר מ-10% מהדגימות.	יבדקו דגימות בכמות של 0.5 ng	עומד/ לא עומד	
3	איזון בין אתרים	היחס בין האתר הנמוך לאתר הגבוה בפרופיל לא ירד מ-40% (בגובה הפיקים)	יבדקו דגימות בכמות של 0.5 ng	עומד/ לא עומד	יבחנו אתרי STR אוטוזומליים, הטרזיגוטיים. יבדקו דגימות מהביקורת החיובית.
4	בדיקת פרופילים מכרטיסי FTA לצרכי מאגר	לפחות 80% מהדגימות יתנו פרופיל מלא בניסיון שיכפול ראשון (ללא צורך בעריכת הפרופיל).	יבדקו לפחות 80 דגימות מאגר	עומד/ לא עומד	ניקוב מהכרטיס בקוטר 1.2 מ"מ